

Pedido nacional de invenção; Pedido nacional de modelo de utilidade; Pedido nacional de certificado de  
adição de invenção; e Entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 11 2025 025448 0

Dados do Depositante (71)

---

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: RAÚL FRANCISCO MOEDANO LARA

Tipo de Pessoa: Pessoa Física

CPF/CNPJ: MX1000006144

Nacionalidade: Mexicana

Qualificação Física: Outras ocupações não especificadas anteriormente

Endereço: MARGARITAS 102 - 42186 - HIDALGO

Cidade:

Estado:

CEP:

País: México

Telefone:

Fax:

Email: patentes@beerre.com.br

## Dados do Pedido

---

**Natureza Patente:** 11 - Patente de Invenção (PI) via PCT

**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA

**Resumo:** Um processo para a obtenção de soro fetal bovino cristalizado com a adição de agmatina, que, em uma concentração específica, atua no aumento da produção celular e aumento da expressão de proteínas por célula; bem como a forma indicada de reconstituição em um líquido específico para uso, sem perder as propriedades originais, permitindo o armazenamento livre da cadeia de ultra refrigeração e reduzindo os riscos de contaminação, pois possibilita a dosagem precisa na quantidade de uso.

**Número do Depósito PCT:** IB2024 053443

**Data do Depósito PCT:** 08/04/2024

## Dados do Procurador

---

### Procurador:

**Nome ou Razão Social:** Celino Bento de Souza

**Numero OAB:** 108745SP

**Numero API:**

**CPF/CNPJ:** 00239661818

**Endereço:** Avenida Barão de Itapura, 3236 Taquaral

**Cidade:** Campinas

**Estado:** SP

**CEP:** 13073-300

**Telefone:**

**Fax:**

**Email:** celino@beerre.com.br

### Escritório:

**Nome ou Razão Social:** BEERRE ASSESSORIA EMPRESARIAL LTDA

**CPF/CNPJ:** 54127295000190

Dados do Inventor (72)

---

Inventor 1 de 1

**Nome:** RAÚL FRANCISCO MOEDANO LARA

**CPF:**

**Nacionalidade:** Mexicana

**Qualificação Física:** Outras ocupações não especificadas anteriormente

**Endereço:** MARGARITAS 102 - 42186

**Cidade:** HIDALGO

**Estado:**

**CEP:**

**País:** MÉXICO

**Telefone:**

**Fax:**

**Email:**

## Documentos anexados

---

Tipo Anexo	Nome
Procuração	PROCURAÇÃO RAÚL FRANCISCO MOEDANO.pdf
Relatório Descritivo	PCT_IB2024_053443 - Relatório Descritivo.pdf
Reivindicação	PCT_IB2024_053443 - Reivindicações.pdf
Resumo	PCT_IB2024_053443 - Resumo.pdf
Relatório de busca internacional	Documento Original - SUERO FETAL PCTIB2024053443-isre-000043-es-ES-XXXXXXXXX.pdf
TRADUÇÃO	Tradução PCT_IB2024_053443.pdf

## Acesso ao Patrimônio Genético

---

- Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

## Declaração de veracidade

---

- Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

## PROCURAÇÃO - PODER

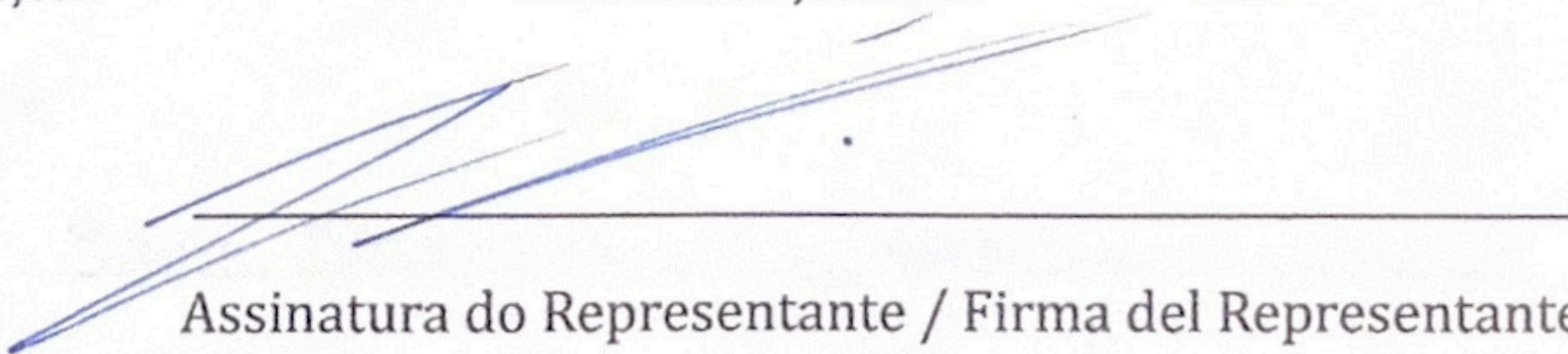
Nome/Nombre: Raúl Francisco Moedano Lara  
Cidadania/Ciudadanía: Mexicano  
Endereço/Dirección: Margaritas 102 - 42186 - HIDALGO MX

outorgam poder especial a ANTONIO BENTO DE SOUZA, brasileiro, casado, advogado inscrito na OAB/SP sob o nº 123.814, CPF nº 002.166.688-16; CELINO BENTO DE SOUZA, brasileiro, casado, advogado inscrito na OAB/SP sob o nº 108.745, CPF nº 002.396.618-18; RENATO CESAR FREITAS SILVESTRE, brasileiro, separado judicialmente, empresário, CPF nº 036.365.318-08 e JOBSON DA SILVA MOITINHO, brasileiro, casado, agente de propriedade industrial, matriculado perante o INPI sob o nº 1821, CPF nº 105.861.268-99, sendo os três primeiros, sócios cotistas da BEÉRRE ASSESSORIA EMPRESARIAL LTDA., cujo endereço é na Avenida Barão de Itapura, 3224, município de Campinas (SP), CGC-MF nº 54.127.295/0001-90, aos quais confere amplos poderes de representação perante o Instituto Nacional da Propriedade Industrial; a Biblioteca Nacional; a Escola de Belas Artes da Universidade Federal do Rio de Janeiro; a Junta Comercial do Estado de São Paulo e o comitê gestor de internet brasileiro (registro.br) para, em conjunto ou isoladamente, requerer e obter registros de marcas, expressões ou sinais de propaganda, direitos autorais, nomes de domínio, privilégios, desenhos industriais, patentes (incluindo o direito de requerer patente no Brasil no nome próprio do outorgante, entrada na fase nacional, e o direito de reivindicar prioridade nos termos do Tratado de Convenção Internacional - PCT); registros de contratos e alterações; averbação de contratos, averbação de alterações e transferências; transferências e alterações; promover impugnações e defesas; registros de produtos e fórmulas; pagar taxas, desarquivar, apresentar oposições, recursos, caducidades, defesas, manifestações e contestações; desistir de pedidos e renunciar a registros de marcas e patentes, inclusive com poderes para dar e receber quitações, bem como para promover todos e quaisquer atos que sejam do interesse do outorgante relativamente ao tema de Propriedade Intelectual, bem como com poderes ad-judice para receber citações.

Otorgan poder especial a ANTONIO BENTO DE SOUZA, brasileiro, casado, abogado inscrito en la OAB/SP bajo el nº 123.814, CPF nº 002.166.688-16; CELINO BENTO DE SOUZA, brasileiro, casado, abogado inscrito en la OAB/SP bajo el nº 108.745, CPF nº 002.396.618-18; RENATO CESAR FREITAS SILVESTRE, brasileiro, separado judicialmente, empresario, CPF nº 036.365.318-08; y JOBSON DA SILVA MOITINHO, brasileiro, casado, agente de propiedad industrial matriculado ante el INPI bajo el nº 1821, CPF nº 105.861.268-99, siendo los tres primeros socios de la empresa BEÉRRE ASSESSORIA EMPRESARIAL LTDA., con domicilio en la Avenida Barão de Itapura, 3224, municipio de Campinas (SP), CGC-MF nº 54.127.295/0001-90, a quienes confiere amplos poderes de representación ante el Instituto Nacional de la Propiedad Industrial, la Biblioteca Nacional, la Escuela de Bellas Artes de la Universidad Federal de Río de Janeiro, la Junta Comercial del Estado de São Paulo y el Comité Gestor de Internet de Brasil (registro.br) para, conjunta o individualmente, solicitar y obtener registros de marcas, expresiones o signos de propaganda, derechos de autor, nombres de dominio, privilegios, diseños industriales, patentes (incluyendo el derecho de solicitar patente en Brasil a nombre propio del otorgante, entrada en la fase nacional y el derecho de reivindicar prioridad conforme al Tratado de Cooperación en materia de Patentes - PCT); registros de contratos y modificaciones; anotación de contratos, modificaciones, cambios y transferencias; promover impugnaciones y defensas; registros de productos y fórmulas; pagar tasas; desarquivar; presentar oposiciones, recursos, caducidades, defensas, manifestaciones y contestaciones; desistir de solicitudes y renunciar a registros de marcas y patentes, incluso con poderes para otorgar y recibir recibos, así como realizar todos y cualesquiera actos que sean de interés del otorgante en relación con el tema de Propiedad Intelectual, además de contar con poderes ad-judice para recibir notificaciones judiciales.

Data/Fecha: 06/11/2025

Lugar: México

  
Assinatura do Representante / Firma del Representante

## **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**

[001] A presente invenção refere-se ao campo da biotecnologia, especificamente a um processo de cristalização e reconstituição de um suplemento para meio de cultura celular.

### **OBJETO DA INVENÇÃO**

[002] O objeto da invenção é um processo para a obtenção de soro fetal bovino cristalizado, pela adição de agmatina selecionada a partir de testes com várias poliaminas, identificando-se aquela que melhor atua no aumento da produção celular e aumento da expressão de proteínas por célula, obtendo-se uma eficiência ideal na cristalização de 98% em relação ao soro fetal líquido; bem como, a forma indicada de reconstituição para líquido específica para o uso, sem perder as propriedades originais, permitindo um armazenamento livre da cadeia de ultra refrigeração e reduzindo os riscos de contaminação, uma vez que possibilita a dosagem precisa da quantidade utilizada.

### **ANTECEDENTES**

[003] Para a cultura de células vegetais e animais, há uma necessidade constante de utilizar soros proteicos que disponibilizem as substâncias nutrientes de crescimento, as quais são necessárias para um desenvolvimento eficiente das células e para a produção das proteínas ou vírus desejados. Para o desenvolvimento eficiente de produtos biológicos, tais como vírus ou proteínas recombinantes, é importante atingir uma densidade celular ideal, bem como aumentar a própria expressão das proteínas, a fim de obter o máximo rendimento do produto.

[004] De modo geral, as formulações de soros fetais bovinos

conhecidos requerem uma cadeia de refrigeração para o transporte e armazenamento. O soro fetal bovino cristalizado apresentado nesta invenção é um produto inovador com uma apresentação na forma de finos cristais, que é convenientemente ajustado em relação às proporções indesejáveis de albumina, transferrina, micoplasma e encefalopatia espongiiforme bovina, tornando-o um produto seguro, particularmente se usado para medicamentos ou vacinas para o uso humano.

**[005]** Atualmente, buscam-se alternativas para proporcionar condições de cultura eficazes que reduzam consideravelmente a contaminação decorrente do descongelamento e da retirada da quantidade necessária para uso em laboratório; nossa invenção surge da necessidade de oferecer um processo que elimine esses e outros problemas técnicos dos soros que se encontram atualmente disponíveis no mercado.

**[006]** A variabilidade de lote para lote, relacionada às variações nas concentrações dos componentes do soro e em sua atividade biológica, em última instância pode levar à variabilidade experimental e limitar a reprodutibilidade entre laboratórios, particularmente para a cultura, a expansão e a diferenciação de células primárias, o que representa um custo significativo associado à cultura de células. Devido à questionável reprodutibilidade dos modelos que se baseiam em soro fetal bovino, seu uso para fins normativos é debatido. Por essa razão, os meios suplementados com soro devem ser evitados sempre que possível, sendo preferíveis os meios quimicamente definidos (van der Valk, et al., 2018).

**[007]** Idealmente, deve haver soro suficiente para um estudo completo. E quando trocarem para um novo frasco, deve-se certificar de que nenhum outro reagente foi alterado e que tenham soro antigo suficiente

armazenado para testar se algum resultado estranho pode ser atribuído à mudança. É fácil, por exemplo, concluir que há algo errado com um protocolo para introduzir DNA nas células quando um novo lote de soro afetou as taxas de divisão. Os pesquisadores também devem registrar as informações fornecidas pelos fornecedores sobre o soro, incluindo os números de lote (Baker, M, 2016).

**[008]** Para evitar a contaminação do soro, alguns pesquisadores estão optando pela radiação gama. Diversos contaminantes comuns, incluindo o *Mycoplasma*, são sensíveis até mesmo a baixos níveis de radiação. Mas isso requer um ato de equilíbrio: a radiação também danifica as proteínas de crescimento e as moléculas bioativas que ajudam as células a prosperar. O consultor de cultura celular, Raymond Nims, da RMC Pharmaceutical Solutions em Longmont, Colorado, aconselha qualquer pessoa que planeje trabalhar com soro irradiado com raios gama a primeiro testar se as células estão funcionando como esperado e a se lembrar de que inclusive o soro livre de contaminantes não pode impedir a infecção por outras fontes (Baker, M, 2016).

**[009]** A utilização de meios de cultura isentos de soro fetal bovino reduz o sofrimento dos animais e pode levar a métodos *in vitro* mais reprodutíveis, alguns dos quais estão sendo desenvolvidos para substituir ou reduzir os experimentos com animais, contribuindo assim para a substituição, redução e aperfeiçoamento dos experimentos com animais. Portanto, os aspectos de segurança, científicos e éticos são incentivos para desenvolver e usar meios de cultura isentos de soro fetal bovino (van der Valk, et al., 2018).

**[010]** Conseguimos eliminar a cadeia de refrigeração no uso do

produto final, fazendo com que se possa manipular a sua dosagem sem contaminação e reduzindo consideravelmente os gastos do consumidor, já que este pode ser armazenado em temperatura ambiente. Desenvolvemos um soro fetal bovino cristalizado onde, ao classificar, misturar e tratar diferentes amostras de sangue fetal bovino se obtenha primeiro um soro fetal que, ao ser cristalizado e dissolvido, este se torne líquido e, ao ser cristalizado novamente, se obtenha sua forma sólida, a qual, quando incorporada a um meio de cultura, proporcione a eficiência e a produtividade celular desejadas.

**[011]** A inovação reside no processo de transformação do produto, visto que, no mercado, o único dominante é o já conhecido soro fetal bovino na forma líquida; contudo, através de um processo de cristalização do mesmo, obtivemos esta nova apresentação, que representa uma inovação no mercado.

**[012]** O soro fetal bovino em cristais, relacionado com a presente invenção, é um produto apresentado na forma sólida por meio de finos cristais, que mantêm as mesmas propriedades que o produto líquido, sem a necessidade de ser congelado, com maior eficiência e desempenho no momento do manuseio; algumas das vantagens obtidas com este produto são: eliminar a cadeia de refrigeração, aumentar a preservação da vida útil do produto, poder armazenar o produto à temperatura ambiente não superior a 30°C, evitar a necessidade de refrigeração, oferecer uma dosagem livre de contaminação sem comprometer a integridade do produto; tudo isso o torna mais eficiente no processo de distribuição e comercialização.

**[013]** A caracterização do soro fetal bovino cristalizado, na qual se

baseia esta invenção, é o processo em que as quantidades necessárias devem ser disponibilizadas com base em uma tabela de diluições para preparar os meios necessários e, simplesmente regenerando os cristais novamente em uma solução de água despirogenada, obtém-se o soro fetal bovino com as mesmas propriedades daquele já conhecido na forma líquida.

**[014]** Naturalmente, o soro fetal bovino é um insumo que é apresentado na forma líquida; no entanto, é um produto sensível e delicado no momento de manuseá-lo, pois deve ser mantido armazenado a uma temperatura mínima de  $-20^{\circ}\text{C}$  e só pode ser usado uma vez após ser descongelado, devido à perda de suas propriedades no momento do descongelamento. Além disso, as formulações de soros fetais bovinos disponíveis no mercado exigem uma cadeia de refrigeração para serem transportados. O soro fetal bovino obtido pelo nosso processo de cristalização é um produto inovador com uma apresentação na forma de finos cristais, o que reduz as proporções de substâncias indesejáveis como albumina, a transferrina, o micoplasma e o vírus da encefalopatia espongiiforme bovina, tornando-o um produto seguro, especialmente se utilizado em medicamentos ou vacinas para uso humano. Com nossa invenção, o soro fetal bovino cristalizado permite um crescimento celular uniforme e um aumento no rendimento dos produtos desejados, particularmente as proteínas. A especialidade da nossa invenção é o uso da agmatina, uma poliamina de cadeia curta, no processo de cristalização do soro bovino, que atua sinergicamente para aumentar o crescimento celular, a produtividade celular específica e a densidade celular final.

**[015]** Patentes selecionadas do banco de dados de patentes,

especificamente da classificação internacional A 61 da Seção de Necessidades Humanas, mencionam o estado da técnica na seção A61K35/16, onde a patente com o número US2009124011A1, referente ao sistema de produção de soro, descreve composições de soro bovino que têm características controladas de soro bovino e métodos para produzir tais composições a partir do sangue total de uma cria de um mamífero bovino fêmea; esta patente descreve o controle das características do soro fetal bovino por meio das condições de produção, mas não mencionam um processo de cristalização.

**[016]** Nas seções A61D1/00, A61D1/08, A61K35/16, B01D17/00, B01D35/00, B01D57/00, da patente CN101112334A, uma tecnologia para a produção de soro de sangue bovino fetal, refere-se a um soro bovino fetal e, mais particularmente, a um processo para a produção de soro bovino fetal; a invenção compreende a coleta, separação, filtração e um subsequente congelamento para o seu armazenamento; esta patente não menciona um processo de cristalização como o que mencionamos em nossa patente; nenhuma delas menciona um procedimento para a cristalização do soro fetal bovino com agmatina, especialmente com as especificações como detalhamos nesta invenção.

**[017]** Curiosamente, descobrimos que o soro fetal bovino cristalizado através do nosso processo é mais favorável à expressão de proteínas e à taxa de crescimento celular em comparação com os soros fetais bovinos naturais, que são considerados produtos padronizados em relação à sua produção.

#### DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

**[018]** Nossa invenção é descrita em detalhes, mencionando suas

características, o que ela faz e como funciona, fazendo referência às etapas que a compõem e às figuras. Da mesma forma, destacando as diferenças em relação ao que já é conhecido.

#### EXEMPLOS

**[019] Exemplo 1.** Foram realizadas várias análises para determinar os diferentes parâmetros que o soro fetal bovino de referência deve apresentar, como a quantidade de proteína e albumina, para desta forma poder igualar ou melhorar o produto em uma apresentação diferente, como é o soro cristalizado:

<b>PARÂMETROS</b>	<b>VALORES DE REFERÊNCIA</b>
PROTEÍNAS TOTAIS	3,4 a 4,5 gramas por decalitre
ALBUMINA SÉRICA	1,2 a 2,5 gramas por decalitre
GLOBULINA	2,4 a 3,6 gramas por decalitre
RELAÇÃO ALBUMINA-GLOBULINA	1,1-1,4

**[020]** Os seguintes resultados foram obtidos:

<b>AMOSTRA DE SANGUE</b>	<b>PROTEÍNA</b>	<b>ALBUMINA</b>	<b>GLOBULINA</b>
1C	3,30 gramas por decalitre	1,20 gramas por decalitre	1,10 gramas por decalitre
3C + 1A	3,50 gramas por decalitre	1,00 gramas por decalitre	1,50 gramas por decalitre
B + ½ R	3,60 gramas por decalitre	1,90 gramas por decalitre	1,70 gramas por decalitre
B + 1R	3,20 gramas por decalitre	1,60 gramas por decalitre	1,60 gramas por decalitre

	decalitro	decalitro	decalitro
B + ½ R	3,00 gramas por decalitro	1,10 gramas por decalitro	1,40 gramas por decalitro
SFB (REF)	3,0 a 4,5 gramas por decalitro	1,60-3,40 gramas por decalitro	1,70 gramas por decalitro

[021] Uma vez identificados estes lotes de sangue fetal bovino, foram realizadas as misturas que para igualar as características físico-químicas do sangue fetal bovino, as quais foram então desfibriladas e centrifugadas a 8.000 rpm. Durante 30 minutos a 4°C em uma centrífuga Beckman Coulter modelo Avanti JxN-26, as amostras foram ultrafiltradas com bombeamento de nitrogênio, utilizando filtros duplos Pall Acropack de 0,10 micras, e colocando-as em recipientes estéreis de PETG.


[022] Com base nos testes realizados, estão listados abaixo os lotes mais significativos, que apresentaram resultados em sua maioria satisfatórios:

LOTE	MISTURA
LOTE DQ-98/20-02-18	SFB 3 MESES DE GESTAÇÃO 400 ml
	SFB 7 MESES DE GESTAÇÃO 400 ml
	SFB 11 MESES DE GESTAÇÃO 100 ml
	SOL. TOTAL 900 ml

[023] Obteve-se uma mistura com características semelhantes ao soro fetal bovino de referência, comprovando essas análises com as realizadas em um laboratório certificado, como é o LABORATORIOS LEI, onde foram verificados os parâmetros como proteína, albumina, imunoglobulinas, endotoxinas, osmolaridade, hemoglobina e potencial de


hidrogênio (os resultados laboratoriais estão anexados como anexo “A”).

[024] Do segundo lote com uma mistura eficaz foi obtido o seguinte resultado:

LOTE	MISTURA	IMAGEM DE REFERÊNCIA
LOTE DQ-145/18-04-19	SFB MISTURA 800 ml POLIAMINA 100 ml SOLUÇÃO ETÍLICA A 40% 100 ml SOL. TOTAL 1000 ml	

[025] Este lote foi enviado ao Instituto Mexicano del Seguro Social Siglo XXI, para a área de imunologia, onde os mesmos estudos foram realizados, mas já havia uma análise de crescimento celular disponível, com células HUVEC, RAJI e HTP-1 (os resultados laboratoriais estão anexados como anexo “B”).


LOTE	MISTURA	IMAGEM DE REFERÊNCIA
LOTE DQ-201-A/12-07-2019 ESTUDOS: AGOSTO 2019	SFB 500 ml POLIAMINA 100 ml SOLUÇÃO ETÍLICA A 40% 80 ml SOL. TOTAL 760 ml	N/A

LOTE	SFB 600 ml	
DQ-201-B/16-10-2019	POLIAMINA 100 ml	
ESTUDOS: NOVEMBRO 2019	SOLUÇÃO ETÍLICA A 40% 80 ml	
	SOL. TOTAL 780 ml	

**[026]** Para o lote seguinte, foi realizada a seguinte mistura:

A amostra foi reenviada ao Instituto Mexicano del Seguro Social Siglo XXI, à área de imunologia, onde prosseguiram com a realização dos testes tanto físico-químicos quanto os de crescimento celular. Também foi levada ao Instituto Politécnico Nacional, à área de biotecnologia, onde foi realizada uma cultura celular utilizando célula HeLa (os resultados laboratoriais estão anexados como Anexo “A”).

**[027]** Para o lote seguinte, foi realizada a seguinte mistura:


LOTE	MISTURA	IMAGEM DE REFERÊNCIA
LOTE	SFB 600 ml	
DQ-297/20-01-2020	POLIAMINA 80 ml	
	SOLUÇÃO ETÍLICA A 40% 100 ml	
	SOL. TOTAL 780 ml	

SFB: Soro fetal bovino;

SE: Refere-se a uma solução etílica a 40%.

**[028] Exemplo 2.** Iniciou-se o trabalho de melhoria das propriedades físicas do produto, como consistência e cor, sendo considerada a liofilização, que foi realizada na Universidade Autônoma do Estado de Hidalgo (UAEH), onde os resultados não foram positivos tanto em termos de aparência quanto de propriedades físico-químicas, uma vez que não atingiram as propriedades do soro fetal bovino convencional.


**[029] Exemplo 3.** Outro dos lotes com resultados significativos é o seguinte:

LOTE	MISTURA	IMAGEM DE REFERÊNCIA
<p>LOTE DQ-326/14-11-2020</p>	<p>MISTURA SFB LOTE 297 + POLIAMINA + SE + <math>\Delta</math> (CONTROLADA)  EFICIÊNCIA: 100 mL = 6,85 gr.</p>	

**[030]** Começaram a utilizar alguns produtos químicos para poder eliminar a água e o sólido resultante, buscando algumas outras poliaminas e poliamidas, até chegar aos resultados esperados, realizando pequenos testes de erro até concluir qual era o reagente orgânico que fornecia os resultados esperados.

**[031] Exemplo 4.** Para o lote seguinte, foi realizada a seguinte mistura:

LOTE	MISTURA	IMAGEM DE REFERÊNCIA

LOTE  DQ-401/23-08-2021	MISTURA SFB LOTE 297 + POLIAMINA + SE + Δ  EFICIÊNCIA: 100 ml  5,03 gr	
-------------------------------	---	---

[032] Trabalharam novamente com as mesmas condições do lote DQ-297/14-12-2020, porém em maior quantidade. Os resultados anteriores foram obtidos novamente, mas desta vez a amostra foi purificada com a adição de álcool etílico, removendo-se o excesso deste com banho-maria, secando-os a 30°C e irradiando-os com luz ultravioleta por 30-45 minutos para a sanitização.

[033] **Exemplo 5.** Para a utilização do produto, as quantidades necessárias são disponibilizadas com base em uma tabela de diluições para preparar os meios necessários; simplesmente regenerando novamente os cristais em uma solução de água despirogenada, pode-se obter o soro fetal bovino com as mesmas propriedades daquele já conhecido na forma líquida:

TABELA DE DILUIÇÕES			
GRAMAS SFB CRISTALIZADO	MILILITROS DE DILUENTE	% SOLUÇÃO FINAL A SER UTILIZADA	EQUIVALENTE EM MILILITROS DE SFB LÍQUIDO
0.242 g	50 ml	10%	5.0 ml
0.485 g	100 ml	10%	10 ml
1.2125 g	250 ml	10%	25 ml

2.425 g	500 ml	10%	50 ml
4.85 g	1000 ml	10%	100 ml
NOMENCLATURA			
ml		Mililitros	
g		Gramas	
SFB		Soro Fetal Bovino	
%		Porcentagem	

**[034]** A tabela acima é elaborada com base em 48,50 gramas por litro de cristais de soro fetal bovino e as diluições são preparadas a partir desses dados. A eficiência do nosso processo permitiu que os lotes obtidos de soro fetal bovino cristalizado apresentassem quantidades constantes de proteína.

**[035]** Após a cristalização do soro fetal bovino, as quantidades especificadas na solução diluente devem ser fornecidas conforme mostrado na tabela de diluições acima, para obter a porcentagem indicada no meio de cultura correspondente, que possui uma diluição a 10%. Essa mesma tabela mostra a equivalência correspondente em mililitros de soro fetal bovino líquido, como produto acabado.

**[036]** PARA A OBTENÇÃO DE SORO FETAL BOVINO CRISTALIZADO, FOI SELECIONADA A SEGUINTE MODALIDADE PREFERENCIAL DA INVENÇÃO:

Começaram a procurar poliamidas e encontraram algumas alifáticas que, segundo a literatura, indicava que eram muito fáceis de polimerizar,

especialmente em caso de alterações de pH, então optaram por continuar buscando agora as poliaminas. Na literatura mencionavam que são mais amigáveis com as proteínas e, se de baixo peso molecular e ponto de fusão, melhor ainda, o que levou à realização de misturas com as alifáticas, onde diferentes testes foram realizados alterando as variantes de consistência, aparência, cor, quantidade, manipulabilidade, concentração de poliamina, concentração de álcool, temperatura, desidratação, efeito químico-biológico negativo-positivo e cristalização.

**[037]** Ao iniciar o trabalho com as poliaminas, encontraram disponíveis a agmatina, espermina e espermidina, sendo que as mesmas variáveis foram tratadas para cada uma delas, assim como para as poliaminas, realizando-se os mesmos testes de consistência, aparência, cor, quantidade, maleabilidade, concentração de poliamina, concentração de álcool etílico, temperatura, desidratação, efeito químico e biológico negativo-positivo e cristalização, onde os melhores resultados são aqueles que são levados em consideração e que reuniam as características químico-biológicas positivas.

**[038]** Descrevo de forma suficiente e clara as etapas da modalidade preferencial de nossa invenção, Obtenção de Soro Fetal Bovino Cristalizado, para colocá-la em prática:

- 1 - A procedência do animal (bovina fêmea) é identificada;
- 2 - É verificado se o animal atende aos requisitos de saúde, devendo possuir o prontuário completo de doenças, vacinas e alimentação;
- 3 - Selecionam-se as fêmeas bovinas que apresentem as seguintes características:
  - a) Até 7 meses de gestação;

- b) Sem doenças;
  - c) Ter todas as vacinas em dia;
  - d) Nutricionalmente saudável com uma dieta à base de pasto;
- 4 - O atordoamento é realizado com CACHETERO CASH para que o animal possa ser abatido sem crueldade;
  - 5 - O sacrifício do animal é realizado através de um degolamento vertical;
  - 6 - É realizada a drenagem do feto bovino;
  - 7 - Posteriormente o feto é extraído verticalmente do bovino;
  - 8 - O sangue fetal é extraído verticalmente e deve ser coletado em condições higiênicas, em bolsas de polipropileno, para evitar contaminação e permitir o processamento;
  - 9 - O sangue é analisado para garantir que não contenha contaminantes externos. Ele é examinado visual e manualmente para verificar se o sangue foi extraído do feto com a devida higiene, para verificar também se o coágulo está começando a se formar e para avaliar as características do sangue, como cor e densidade;
  - 10 - O sangue é deixado em repouso por 5 horas para permitir a formação do coágulo, mantendo-o no gelo para evitar o crescimento de microrganismos;
  - 11 - O sangue é submetido à desfibrinação de forma mecânica para romper todos os tipos de coágulos;
  - 12 - O sangue é submetido à centrifugação para separação do soro a 8.000 rpm, durante 30 minutos a 4°C, em uma centrífuga Beckman Coulter modelo Avanti JxN-26;
  - 13 - A decantação é realizada;
  - 14 - Obtém-se soro fetal bovino;

15 - O soro é colocado em tanques de homogeneização com capacidade de 10 a 20 litros, de formato oval, onde é homogeneizado por meios mecânicos, ou seja, por movimentos circulares, horizontais, verticais e vibratórios;

16 - Obtém-se o soro homogêneo;

17 - O soro é transferido para recipientes cilíndricos de aço inoxidável com uma inclinação interna, na parte externa com um manômetro para medir a pressão de bombeamento do nitrogênio, uma tampa de vedação hermética e uma conexão flexível que sai do cilindro e alcança o recipiente com capacidade de 10 a 20 litros. Deve ser conectado a um sistema de bombeamento de nitrogênio para embalagem com base na dosagem desejada;

18 - O soro é submetido a uma tripla filtração utilizando filtros duplos Pall Acropack de 0,1 micra para remover toxinas e compostos químicos indesejados;

19 - Embalar para distribuição em condições higiênicas e com total assepsia;

20 - Após o soro ser embalado, ele é irradiado com luz ultravioleta por 30 a 45 minutos para garantir a esterilização do produto;

21 - O soro é congelado a -21° graus Celsius para armazenamento;

22 - O soro fetal bovino puro é descongelado à temperatura ambiente de 8 a 12 graus Celsius;

23 - Adicionam-se 80 ml de agmatina a 30% com água, obtendo-se um pH de 6. A mistura corresponde a 600 ml de soro fetal bovino mais 80 ml de agmatina a 30% e 100 ml de solução etílica a 40% em água com pH 6;

24 - É incubado durante 2 horas a -5°C;

25 - É centrifugado a  $-6^{\circ}\text{C}$  a uma velocidade de 8.000 rpm para a separação da matéria sólida;

26 - Caso sejam encontrados sólidos após a centrifugação, esses sólidos da amostra são descartados;

27 - É adicionada ao composto de soro fetal bovino com agmatina uma solução de 12,80% de álcool etílico a 40%, o que ajuda a manter as propriedades do Soro Fetal Bovino sem afetar sua composição química;

28 - É submetido à centrifugação a 8.000 rpm a uma temperatura máxima de  $-5^{\circ}\text{C}$  para a separação da matéria sólida;

29 - É submetido gradualmente a uma temperatura máxima de  $18^{\circ}\text{C}$ , durante o tempo necessário para realizar a remoção da água para a desidratação do produto sem perder as propriedades químicas iniciais;

30 - A amostra forma finos cristais rosa; obtêm-se finos cristais rosa de aproximadamente 1 micra;

31 - Após o composto cristalizado ser embalado, este é colocado em recipientes estéreis de poliéster de glicol PETG ou de vidro;

32 - É irradiado com luz ultravioleta durante 30 a 45 minutos para garantir a higienização do produto;

33 - São realizados estudos dos principais parâmetros para verificar a conformidade em relação à qualidade e assepsia do produto;

34 - Para a utilização do produto, as quantidades necessárias são disponibilizadas com base em uma tabela de diluições para preparar os meios necessários; simplesmente regenerando os cristais em uma solução de água despirogenada, pode-se obter o soro fetal bovino com as mesmas propriedades daquele já conhecido na forma líquida.

**[039]** As quantidades para a regeneração dos cristais e seu uso ideal

são: em 50 ml de solução água despirogenada com 0,242 g de Soro Fetal Bovino cristalizado; em 100 ml com 0,485 g de Soro Fetal Bovino cristalizado; em 250 ml com 1,2125 g de Soro Fetal Bovino cristalizado; em 500 ml com 2,425 g de Soro Fetal Bovino cristalizado; em 1000 ml com 4,85 g de Soro Fetal Bovino cristalizado, de acordo com o lote do teste realizado.

## REIVINDICAÇÕES

**1 - PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA, caracterizado por** compreender as seguintes etapas:

- 1 - Identificação da procedência do bovino fêmea;
- 2 - Revisão dos requisitos sanitários do bovino fêmea;
- 3 - Seleção do bovino fêmea;
- 4 - Atordoamento do bovino fêmea utilizando a técnica de Cachetero Cash;
- 5 - O sacrifício do animal através de um degolamento vertical;
- 6 - Drenagem do feto bovino;
- 7 - Extração do feto bovino verticalmente;
- 8 - Extração vertical de sangue fetal e coleta em condições higiênicas em bolsas de polipropileno;
- 9 - Verificação se o sangue não apresenta qualquer contaminante externo;
- 10 - Repouso do sangue;
- 11 - Desfibrinação do sangue de forma mecânica para romper todos os tipos de coágulos;
- 12 - Separação do soro por centrifugação;
- 13 - Decantação do soro fetal bovino;
- 14 - Obtenção do soro fetal bovino;
- 15 - Colocação do soro fetal bovino em tanques de homogeneização;
- 16 - Obtenção do soro fetal bovino homogêneo;
- 17 - Colocação do soro fetal bovino em recipientes de aço inoxidável;
- 18 - Filtragem do soro fetal bovino para remover toxinas e compostos químicos indesejados;
- 19 - Embalagem de soro fetal bovino para distribuição em condições

higiênicas e com total assepsia;

20 - Esterilização do soro fetal bovino;

21 - Congelamento do soro fetal bovino;

22 - Descongelamento do soro fetal bovino puro;

23 - Obtenção de uma mistura constituída de soro fetal bovino com agmatina e água;

24 - Incubação da mistura;

25 - Centrifugação da mistura;

26 - Remoção de possíveis sólidos da amostra após a centrifugação;

27 - Adição ao soro fetal bovino com agmatina de 12,80% de álcool etílico a 40%, o que ajuda a manter as propriedades do Soro Fetal Bovino sem afetar sua composição química e para eliminar resíduos de poliamina;

28 - Centrifugação para a separação da matéria sólida;

29 - Secagem para a desidratação da mistura;

30 - Obtenção de finos cristais;

31 - Embalagem do composto cristalizado;

32 - Desinfecção do composto com luz ultravioleta;

33 - Realização de testes para controle de qualidade;

34 - Regeneração dos cristais.

**2 - PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA,** de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 3 a seleção do bovino fêmea é baseada na idade de até 7 meses de gestação.

**3 - PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA,** de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa

10 o repouso do sangue é por 5 horas mantendo-o no gelo.

**4 - PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA,** de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 12 a separação do soro é feita por centrifugação a 8.000 rpm durante 30 minutos a 4°C em uma centrífuga Beckman Coulter modelo Avanti JxN-26.

**5 - PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA,** de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 15 os tanques são de aço inoxidável com capacidade de 10 a 20 litros e têm formato oval, onde é homogeneizado por meios mecânicos, ou seja, por movimentos circulares, horizontais, verticais e vibratórios.

**6 - PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA,** de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 17 o soro é transferido para um cilindro de aço inoxidável que deve ser conectado a um sistema de bombeamento de nitrogênio para embalagem com base na dosagem desejada.

**7 - PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA,** de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 18 é realizada uma tripla filtração com bombeamento de nitrogênio usando filtros duplos Pall Acropack de 0,10 micra.

**8 - PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA,**

de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 20 a esterilização do soro fetal bovino com luz ultravioleta é realizada por 30-45 minutos.

9 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 21 o armazenamento do soro fetal bovino é feito a -21° graus Celsius.

10 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 22 o descongelamento do soro fetal bovino puro é realizado à temperatura ambiente de 8 a 12 graus Celsius.

11 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 23 é obtida uma mistura constituída por 600 ml de soro fetal bovino mais 80 ml de agmatina a 30% e 100 ml de solução etílica a 40% em água com pH 6.

12 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 24 a incubação da mistura é realizada por 2 horas a -5°C.

13 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 25 a centrifugação da mistura a -6° C é realizada a uma velocidade de

8.000 rpm para a separação da matéria sólida.

14 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 27 o álcool etílico é adicionado ao composto de soro fetal bovino e agmatina, em que a concentração de álcool etílico é de 40%.

15 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 28 a centrifugação é realizada a 8.000 rpm a uma temperatura máxima de -5°C para a separação da matéria sólida.

16 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 29 a temperatura de secagem para desidratação do composto é progressivamente aumentada até uma temperatura máxima de 18°C para evitar a perda das propriedades químicas iniciais.

17 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 30 são obtidos finos cristais cor rosa de tamanho de 1 micra, não limitado a 1 micra.

18 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 31 a embalagem do composto pode ser feita em recipientes estéreis de

poliéster glicol PETG ou de vidro.

19 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 32 a esterilização do composto é feita com luz ultravioleta.

20 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 32 o tempo de esterilização do composto é de 30 a 45 minutos.

21 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que na etapa 34 as quantidades para a regeneração dos cristais e sua utilização podem ser de 50 ml de solução de água despirogenada com 0,242 gramas de Soro Fetal Bovino cristalizado; 100 ml com 0,485 gramas de Soro Fetal Bovino cristalizado; 250 ml com 1,2125 gramas de Soro Fetal Bovino cristalizado; 500 ml com 2,425 gramas de Soro Fetal Bovino cristalizado; 1000 ml com 4,85 gramas de Soro Fetal Bovino cristalizado.

22 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com as reivindicações 1 a 20, **caracterizado por** ser obtido um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina.

23 - **PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** cristalizado de soro fetal bovino com agmatina ser utilizado em culturas de células para

aumentar a produção celular e aumentar a expressão de proteínas por célula.

**24 - PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA,** de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo uso do cristalizado de soro fetal bovino com agmatina em culturas de células ser para um armazenamento livre de cadeia de ultra refrigeração.

**25 - PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA,** de acordo com a reivindicação 1 e 2, caracterizado pelo uso do cristalizado de soro fetal bovino com agmatina em culturas de células usando dosagem precisa de acordo com a reivindicação 2, ser para a quantidade a ser utilizada reduzir os riscos de contaminação.

RESUMO

**PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE  
SORO FETAL BOVINO COM AGMATINA**

Um processo para a obtenção de soro fetal bovino cristalizado com a adição de agmatina, que, em uma concentração específica, atua no aumento da produção celular e aumento da expressão de proteínas por célula; bem como a forma indicada de reconstituição em um líquido específico para uso, sem perder as propriedades originais, permitindo o armazenamento livre da cadeia de ultra refrigeração e reduzindo os riscos de contaminação, pois possibilita a dosagem precisa na quantidade de uso.

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES  
**PCT**

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

(Artículo 18 y Reglas 43 y 44 del PCT)

Referencia del expediente del solicitante o del mandatario <b>SUEROFETAL</b>	<b>PARA CONTINUAR LA TRAMITACIÓN</b>	ver Formulario PCT/ISA/220 y, en su caso, el punto 5 de esta hoja.
Solicitud internacional N° PCT/IB2024/053443	Fecha de presentación internacional ( <i>día/mes/año</i> ) 8 ABRIL 2024 (08.04.2024)	Fecha de prioridad (la más antigua) ( <i>día/mes/año</i> ) 1 JUNIO 2023 (01.06.2023)
Solicitante <b>MOEDANO LARA, Raúl Francisco</b>		

El presente informe de búsqueda de tipo internacional, elaborado por esta Administración encargada de la búsqueda internacional, se transmite al solicitante, conforme al Artículo 18. Se remite una copia del mismo a la Oficina Internacional.

Este informe de búsqueda de tipo internacional comprende un total de 5 hojas.

Se adjunta una copia de cada uno de los documentos del estado de la técnica citados en el informe.

1. **Base del informe**

a. En lo que se refiere al **idioma**, la búsqueda de tipo internacional se ha realizado sobre la base de:

la solicitud en el idioma en el que se presentó

una traducción de la solicitud al \_\_\_\_, que es el idioma de la traducción proporcionada a los fines de la búsqueda internacional (Reglas 12.3.a) y 23.1.b))

b.  Este informe de búsqueda internacional se ha realizado teniendo en cuenta la rectificación de un error evidente autorizado por o notificado a esta Administración según la Regla 91 (Regla 43. 6bis.a)).

c.  En lo que se refiere a **las secuencias de nucleótidos y/o de aminoácidos** divulgadas en la solicitud internacional, véase Recuadro I.

2.  **Se estima que algunas reivindicaciones no pueden ser objeto de búsqueda** (ver Recuadro II).

3.  **Falta unidad de invención** (ver Recuadro III).

4. Con respecto al **título**,

el texto se aprueba según fue remitido por el solicitante.

el texto ha sido establecido por esta Administración con la siguiente redacción:

5. Con respecto al **resumen**,

el texto se aprueba según fue remitido por el solicitante.

el texto (reproducido en el Recuadro IV) ha sido establecido por esta Administración de conformidad con la Regla 38.2.

El solicitante puede presentar observaciones a esta Administración en el plazo de un mes a contar desde la fecha de expedición del presente informe de búsqueda internacional.

6. Con respecto a los **dibujos**,

a. la figura de los **dibujos** a publicar junto con el resumen es la Figura N° \_

propuesta por el solicitante.

propuesta por esta Administración, por no haber propuesto el solicitante ninguna figura.

propuesta por esta Administración, por caracterizar mejor, esta figura, la invención.

b.  no debe publicarse ninguna figura.

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/IB2024/053443

## A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

**C12N5/02** (2006.01)

**B01J19/06** (2006.01)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

## B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

**C12N, B01J**

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

**EPODOC, INVENES, WPI, NPL, TXTE, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, INSPEC, INTERNET**

## C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	CN 108192855 A (TIANJIN BOAOKE BIOTECHNOLOGY CO LTD) 22/06/2018.	1-25
A	JP 2015097543 A (LIFE TECHNOLOGIES CORP) 28/05/2015.	1-25
A	EP 1702978 A2 (INVITROGEN CORP LIFE TECHNOLOGIES CORP) 20/09/2006, todo el documento; en particular: párrafos [0001], [0006], [0008], [0012], [00014], [0016] y [0054].	1-25
A	CN 111304143 A (SHANGHAI NONGSHENG BIOTECHNOLOGY CO LTD) 19/06/2020.	1-25
A	CN 107746828 A (ZHEJIANG TIANHANG BIOTECHNOLOGY CO LTD) 02/03/2018.	1-25

En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos  Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

<p>* Categorías especiales de documentos citados:</p> <p>"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.</p> <p>"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.</p> <p>"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).</p> <p>"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.</p> <p>"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.</p>	<p>"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.</p> <p>"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.</p> <p>"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.</p> <p>"&amp;" documento que forma parte de la misma familia de patentes.</p>
--	--

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional. <b>12/06/2024</b>	Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional. <b>13 de junio de 2024 (13/06/2024)</b>
--	---

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional <b>OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS</b> Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España) Nº de fax: 91 349 53 04	Funcionario autorizado <b>A. Maquedano Herrero</b> Nº de teléfono 913495474
--	---

Formulario PCT/ISA/210 (segunda hoja) (Julio 2022)

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/IB2024/053443

C (Continuación).		DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
A	CN 106119183 A (GUANGZHOU JETWAY BIOTECH CO LTD) 16/11/2016.	1-25
A	CN 108373987 A (TIANJIN BIOCO BIOTECHNOLOGY CO LTD) 07/08/2018.	1-25

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

PCT/IB2024/053443

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
CN108192855 A	22.06.2018	NINGUNO	
-----	-----	-----	-----
JP2015097543 A	28.05.2015	US2019048312 A1	14.02.2019
		JP6166744B B2	19.07.2017
		JP2013153759 A	15.08.2013
		US2013109094 A1	02.05.2013
		US2011129926 A1	02.06.2011
		EP2295533 A2	16.03.2011
		EP2295533 A3	13.07.2011
		JP2009165485 A	30.07.2009
		US2008311660 A1	18.12.2008
		US2008261308 A1	23.10.2008
		US2008019883 A1	24.01.2008
		US2006275886 A1	07.12.2006
		WO0236735 A2	10.05.2002
		WO0236735 A3	20.06.2002
		NZ526173 A	24.03.2005
		JP2004521615 A	22.07.2004
		CA2427596 A1	10.05.2002
		AU2002232406B B2	17.07.2008
		AU2002232406C C1	05.03.2009
		AU3240602 A	15.05.2002
		EP1339829 A2	03.09.2003
		EP1339829 A4	17.11.2004
-----	-----	-----	-----
EP1702978 A2	20.09.2006	US2019048312 A1	14.02.2019
		JP2016152821 A	25.08.2016
		DK2186882T T3	27.04.2015
		ES2516790T T3	31.10.2014
		DK2281873T T3	27.10.2014
		JP2014054267 A	27.03.2014
		JP5985463B B2	06.09.2016
		US2013109094 A1	02.05.2013
		US2013065300 A1	14.03.2013
		CA2798535 A1	20.08.1998
		CA2798535 C	17.05.2016
		US2012276630 A1	01.11.2012
		US2011129926 A1	02.06.2011
		DK1702978T T3	30.05.2011
		ATE507283T T1	15.05.2011
		JP2010233580 A	21.10.2010
		EP2281873 A1	09.02.2011
		EP2281873 B1	23.07.2014
		EP2186882 A1	19.05.2010
		EP2186882 B1	28.01.2015
		JP2009118864 A	04.06.2009
		US2008311660 A1	18.12.2008
		US2008261308 A1	23.10.2008
		US2004087022 A1	06.05.2004
		US7572632 B2	11.08.2009
		US2008019883 A1	24.01.2008

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

PCT/IB2024/053443

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
		US2002015999 A1	07.02.2002
		US6627426 B2	30.09.2003
		WO9836051 A1	20.08.1998
		US2001049141 A1	06.12.2001
		US6383810 B2	07.05.2002
		JP2008043343 A	28.02.2008
		JP2007125044 A	24.05.2007
		JP2005118046 A	12.05.2005
		JP2002515758 A	28.05.2002
		JP4557311B B2	06.10.2010
		EP1012234 A1	28.06.2000
		EP1012234 A4	06.11.2002
		CA2280741 A1	20.08.1998
		CA2280741 C	09.04.2013
		AU6654998 A	08.09.1998
----- CN111304143 A	----- 19.06.2020	----- NINGUNO	-----
----- CN107746828 A	----- 02.03.2018	----- NINGUNO	-----
----- CN106119183 A	----- 16.11.2016	----- NINGUNO	-----
----- CN108373987 A	----- 07.08.2018	----- NINGUNO	-----

**PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM CRISTALIZADO DE SORO FETAL  
BOVINO COM AGMATINA**

CAMPO DA INVENÇÃO

5

A presente invenção refere-se ao campo da biotecnologia, especificamente a um processo de cristalização e reconstituição de um suplemento para meio de cultura celular.

10 OBJETO DA INVENÇÃO

O objeto da invenção é um processo para a obtenção de soro fetal bovino cristalizado, pela adição de agmatina selecionada a partir de testes com várias poliaminas, identificando-se aquela que melhor atua no aumento da produção celular e aumento da expressão de proteínas por célula, obtendo-se uma eficiência ideal na cristalização de 98% em relação ao soro fetal líquido; bem como, a forma indicada de reconstituição para líquido específica para o uso, sem perder as propriedades originais, permitindo um armazenamento livre da cadeia de ultra refrigeração e reduzindo os riscos de contaminação, uma vez que possibilita a dosagem precisa da quantidade utilizada.

25 ANTECEDENTES

Para a cultura de células vegetais e animais, há uma necessidade constante de utilizar soros proteicos que disponibilizem as substâncias nutrientes de crescimento, as quais são necessárias para um desenvolvimento eficiente das

células e para a produção das proteínas ou vírus desejados. Para o desenvolvimento eficiente de produtos biológicos, tais como vírus ou proteínas recombinantes, é importante atingir uma densidade celular ideal, bem como aumentar a própria  
5 expressão das proteínas, a fim de obter o máximo rendimento do produto.

De modo geral, as formulações de soros fetais bovinos conhecidos requerem uma cadeia de refrigeração para o transporte e armazenamento. O soro fetal bovino cristalizado  
10 apresentado nesta invenção é um produto inovador com uma apresentação na forma de finos cristais, que é convenientemente ajustado em relação às proporções indesejáveis de albumina, transferrina, micoplasma e encefalopatia espongiforme bovina, tornando-o um produto  
15 seguro, particularmente se usado para medicamentos ou vacinas para o uso humano.

Atualmente, buscam-se alternativas para proporcionar condições de cultura eficazes que reduzam consideravelmente a contaminação decorrente do descongelamento e da retirada da  
20 quantidade necessária para uso em laboratório; nossa invenção surge da necessidade de oferecer um processo que elimine esses e outros problemas técnicos dos soros que se encontram atualmente disponíveis no mercado.

A variabilidade de lote para lote, relacionada às variações nas concentrações dos componentes do soro e em sua atividade  
25 biológica, em última instância pode levar à variabilidade experimental e limitar a reprodutibilidade entre laboratórios, particularmente para a cultura, a expansão e a

diferenciação de células primárias, o que representa um custo significativo associado à cultura de células. Devido à questionável reprodutibilidade dos modelos que se baseiam em soro fetal bovino, seu uso para fins normativos é debatido.

5 Por essa razão, os meios suplementados com soro devem ser evitados sempre que possível, sendo preferíveis os meios quimicamente definidos (van der Valk, et al., 2018).

Idealmente, deve haver soro suficiente para um estudo completo. E quando trocarem para um novo frasco, deve-se  
10 certificar de que nenhum outro reagente foi alterado e que tenham soro antigo suficiente armazenado para testar se algum resultado estranho pode ser atribuído à mudança. É fácil, por exemplo, concluir que há algo errado com um protocolo para introduzir DNA nas células quando um novo lote de soro afetou  
15 as taxas de divisão. Os pesquisadores também devem registrar as informações fornecidas pelos fornecedores sobre o soro, incluindo os números de lote (Baker, M, 2016).

Para evitar a contaminação do soro, alguns pesquisadores estão optando pela radiação gama. Diversos contaminantes  
20 comuns, incluindo o *Mycoplasma*, são sensíveis até mesmo a baixos níveis de radiação. Mas isso requer um ato de equilíbrio: a radiação também danifica as proteínas de crescimento e as moléculas bioativas que ajudam as células a prosperar. O consultor de cultura celular, Raymond Nims, da  
25 RMC Pharmaceutical Solutions em Longmont, Colorado, aconselha qualquer pessoa que planeje trabalhar com soro irradiado com raios gama a primeiro testar se as células estão funcionando como esperado e a se lembrar de que inclusive o soro livre de

contaminantes não pode impedir a infecção por outras fontes (Baker, M, 2016).

A utilização de meios de cultura isentos de soro fetal bovino reduz o sofrimento dos animais e pode levar a métodos in vitro mais reprodutíveis, alguns dos quais estão sendo desenvolvidos para substituir ou reduzir os experimentos com animais, contribuindo assim para a substituição, redução e aperfeiçoamento dos experimentos com animais. Portanto, os aspectos de segurança, científicos e éticos são incentivos para desenvolver e usar meios de cultura isentos de soro fetal bovino (van der Valk, et al., 2018).

Conseguimos eliminar a cadeia de refrigeração no uso do produto final, fazendo com que se possa manipular a sua dosagem sem contaminação e reduzindo consideravelmente os gastos do consumidor, já que este pode ser armazenado em temperatura ambiente. Desenvolvemos um soro fetal bovino cristalizado onde, ao classificar, misturar e tratar diferentes amostras de sangue fetal bovino se obtenha primeiro um soro fetal que, ao ser cristalizado e dissolvido, este se torne líquido e, ao ser cristalizado novamente, se obtenha sua forma sólida, a qual, quando incorporada a um meio de cultura, proporcione a eficiência e a produtividade celular desejadas.

A inovação reside no processo de transformação do produto, visto que, no mercado, o único dominante é o já conhecido soro fetal bovino na forma líquida; contudo, através de um processo de cristalização do mesmo, obtivemos esta nova apresentação, que representa uma inovação no mercado.

O soro fetal bovino em cristais, relacionado com a presente invenção, é um produto apresentado na forma sólida por meio de finos cristais, que mantêm as mesmas propriedades que o produto líquido, sem a necessidade de ser congelado, com maior eficiência e desempenho no momento do manuseio; algumas das vantagens obtidas com este produto são: eliminar a cadeia de refrigeração, aumentar a preservação da vida útil do produto, poder armazenar o produto à temperatura ambiente não superior a 30°C, evitar a necessidade de refrigeração, oferecer uma dosagem livre de contaminação sem comprometer a integridade do produto; tudo isso o torna mais eficiente no processo de distribuição e comercialização.

A caracterização do soro fetal bovino cristalizado, na qual se baseia esta invenção, é o processo em que as quantidades necessárias devem ser disponibilizadas com base em uma tabela de diluições para preparar os meios necessários e, simplesmente regenerando os cristais novamente em uma solução de água despirogenada, obtém-se o soro fetal bovino com as mesmas propriedades daquele já conhecido na forma líquida.

Naturalmente, o soro fetal bovino é um insumo que é apresentado na forma líquida; no entanto, é um produto sensível e delicado no momento de manuseá-lo, pois deve ser mantido armazenado a uma temperatura mínima de -20°C e só pode ser usado uma vez após ser descongelado, devido à perda de suas propriedades no momento do descongelamento. Além disso, as formulações de soros fetais bovinos disponíveis no mercado exigem uma cadeia de refrigeração para serem transportados. O soro fetal bovino obtido pelo nosso processo

de cristalização é um produto inovador com uma apresentação na forma de finos cristais, o que reduz as proporções de substâncias indesejáveis como albumina, a transferrina, o micoplasma e o vírus da encefalopatia espongiforme bovina, tornando-o um produto seguro, especialmente se utilizado em medicamentos ou vacinas para uso humano. Com nossa invenção, o soro fetal bovino cristalizado permite um crescimento celular uniforme e um aumento no rendimento dos produtos desejados, particularmente as proteínas. A especialidade da nossa invenção é o uso da agmatina, uma poliamina de cadeia curta, no processo de cristalização do soro bovino, que atua sinergicamente para aumentar o crescimento celular, a produtividade celular específica e a densidade celular final.

Patentes selecionadas do banco de dados de patentes, especificamente da classificação internacional A 61 da Seção de Necessidades Humanas, mencionam o estado da técnica na seção A61K35/16, onde a patente com o número US2009124011A1, referente ao sistema de produção de soro, descreve composições de soro bovino que têm características controladas de soro bovino e métodos para produzir tais composições a partir do sangue total de uma cria de um mamífero bovino fêmea; esta patente descreve o controle das características do soro fetal bovino por meio das condições de produção, mas não mencionam um processo de cristalização.

Nas seções A61D1/00, A61D1/08, A61K35/16, B01D17/00, B01D35/00, B01D57/00, da patente CN101112334A, uma tecnologia para a produção de soro de sangue bovino fetal, refere-se a um soro bovino fetal e, mais particularmente, a um processo

para a produção de soro bovino fetal; a invenção compreende a coleta, separação, filtração e um subsequente congelamento para o seu armazenamento; esta patente não menciona um processo de cristalização como o que mencionamos em nossa  
5 patente; nenhuma delas menciona um procedimento para a cristalização do soro fetal bovino com agmatina, especialmente com as especificações como detalhamos nesta invenção.

Curiosamente, descobrimos que o soro fetal bovino  
10 cristalizado através do nosso processo é mais favorável à expressão de proteínas e à taxa de crescimento celular em comparação com os soros fetais bovinos naturais, que são considerados produtos padronizados em relação à sua produção.

## 15 DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

Nossa invenção é descrita em detalhes, mencionando suas características, o que ela faz e como funciona, fazendo referência às etapas que a compõem e às figuras. Da mesma  
20 forma, destacando as diferenças em relação ao que já é conhecido.

## EXEMPLOS

Exemplo 1.

25 Foram realizadas várias análises para determinar os diferentes parâmetros que o soro fetal bovino de referência deve apresentar, como a quantidade de proteína e albumina,

para desta forma poder igualar ou melhorar o produto em uma apresentação diferente, como é o soro cristalizado:

<b>PARÂMETROS</b>	<b>VALORES DE REFERÊNCIA</b>
PROTEÍNAS TOTAIS	3,4 a 4,5 gramas por decalitro
ALBUMINA SÉRICA	1,2 a 2,5 gramas por decalitro
GLOBULINA	2,4 a 3,6 gramas por decalitro
RELAÇÃO ALBUMINA-GLOBULINA	1,1-1,4

5 Os seguintes resultados foram obtidos:

<b>AMOSTRA DE SANGUE</b>	<b>PROTEÍNA</b>	<b>ALBUMINA</b>	<b>GLOBULINA</b>
1C	3,30 gramas por decalitro	1,20 gramas por decalitro	1,10 gramas por decalitro
3C + 1A	3,50 gramas por decalitro	1,00 gramas por decalitro	1,50 gramas por decalitro
B + ½ R	3,60 gramas por decalitro	1,90 gramas por decalitro	1,70 gramas por decalitro
B + 1R	3,20 gramas por decalitro	1,60 gramas por decalitro	1,60 gramas por decalitro
B + ½ R	3,00 gramas por decalitro	1,10 gramas por decalitro	1,40 gramas por decalitro
SFB (REF)	3,0 a 4,5 gramas por decalitro	1,60-3,40 gramas por decalitro	1,70 gramas por decalitro

Uma vez identificados estes lotes de sangue fetal bovino, foram realizadas as misturas que para igualar as características físico-químicas do sangue fetal bovino, as  
5 quais foram então desfibriladas e centrifugadas a 8.000 rpm. Durante 30 minutos a 4°C em uma centrífuga Beckman Coulter modelo Avanti JxN-26, as amostras foram ultrafiltradas com bombeamento de nitrogênio, utilizando filtros duplos Pall Acropack de 0,10 micras, e colocando-as em recipientes  
10 estéreis de PETG.

Com base nos testes realizados, estão listados abaixo os lotes mais significativos, que apresentaram resultados em sua maioria satisfatórios:


<b>LOTE</b>	<b>MISTURA</b>	
LOTE DQ-98/20-02-18	SFB 3 MESES DE GESTAÇÃO	400 ml
	SFB 7 MESES DE GESTAÇÃO	400 ml
	SFB 11 MESES DE GESTAÇÃO	100 ml
	SOL. TOTAL	900 ml

15

Obteve-se uma mistura com características semelhantes ao soro fetal bovino de referência, comprovando essas análises com as realizadas em um laboratório certificado, como é o LABORATORIOS LEI, onde foram verificados os parâmetros como  
20 proteína, albumina, imunoglobulinas, endotoxinas, osmolaridade, hemoglobina e potencial de hidrogênio (os resultados laboratoriais estão anexados como anexo "A").


Do segundo lote com uma mistura eficaz foi obtido o seguinte resultado:

25

LOTE	MISTURA	IMAGEM DE REFERÊNCIA
LOTE DQ-145/18-04-19	SFB MISTURA 800 ml POLIAMINA 100 ml SOLUÇÃO ETÍLICA A 40% 100 ml SOL. TOTAL 1000 ml	

Este lote foi enviado ao Instituto Mexicano del Seguro Social Siglo XXI, para a área de imunologia, onde os mesmos estudos foram realizados, mas já havia uma análise de crescimento celular disponível, com células HUVEC, RAJI e HTP-1 (os resultados laboratoriais estão anexados como anexo "B").


LOTE	MISTURA	IMAGEM DE REFERÊNCIA
LOTE DQ-201-A/12-07- 2019 ESTUDOS: AGOSTO 2019	SFB 500 ml POLIAMINA 100 ml SOLUÇÃO ETÍLICA A 40% 80 ml SOL. TOTAL 760 ml	N/A

LOTE DQ-201-B/16-10- 2019 ESTUDOS: NOVEMBRO 2019	SFB	600 ml	
	POLIAMINA	100 ml	
	SOLUÇÃO ETÍLICA A		
	40%	80 ml	
	SOL. TOTAL	780 ml	

Para o lote seguinte, foi realizada a seguinte mistura:

A amostra foi reenviada ao Instituto Mexicano del Seguro Social Siglo XXI, à área de imunologia, onde prosseguiram com a realização dos testes tanto físico-químicos quanto os de crescimento celular. Também foi levada ao Instituto Politécnico Nacional, à área de biotecnologia, onde foi realizada uma cultura celular utilizando célula HeLa (os resultados laboratoriais estão anexados como Anexo "A").

10 Para o lote seguinte, foi realizada a seguinte mistura:

LOTE	MISTURA	IMAGEM DE REFERÊNCIA
LOTE DQ-297/20-01-2020	SFB 600 ml POLIAMINA 80 ml SOLUÇÃO ETÍLICA A 40% 100 ml  SOL. TOTAL 780 ml	


SFB: Soro fetal bovino.

SE: Refere-se a uma solução etílica a 40%

15

Exemplo 2. Iniciou-se o trabalho de melhoria das propriedades físicas do produto, como consistência e cor, sendo considerada a liofilização, que foi realizada na Universidade Autônoma do Estado de Hidalgo (UAEH), onde os resultados não foram positivos tanto em termos de aparência quanto de propriedades físico-químicas, uma vez que não atingiram as propriedades do soro fetal bovino convencional.

Exemplo 3. Outro dos lotes com resultados significativos é o seguinte:

LOTE	MISTURA	IMAGEM DE REFERÊNCIA
LOTE DQ-326/14-11-2020	MISTURA SFB LOTE 297 + POLIAMINA + SE + $\Delta$ (CONTROLADA) EFICIÊNCIA: 100 mL = 6,85 gr.	

Começaram a utilizar alguns produtos químicos para poder eliminar a água e o sólido resultante, buscando algumas outras poliaminas e poliamidas, até chegar aos resultados esperados, realizando pequenos testes de erro até concluir qual era o reagente orgânico que fornecia os resultados esperados.

Exemplo 4. Para o lote seguinte, foi realizada a seguinte mistura:

LOTE	MISTURA	IMAGEM DE REFERÊNCIA
LOTE DQ-401/23-08-2021	MISTURA SFB LOTE 297 + POLIAMINA + SE + $\Delta$ EFICIÊNCIA: 100 ml 5,03 gr	

5

Trabalharam novamente com as mesmas condições do lote DQ-297/14-12-2020, porém em maior quantidade. Os resultados anteriores foram obtidos novamente, mas desta vez a amostra foi purificada com a adição de álcool etílico, removendo-se o excesso deste com banho-maria, secando-os a 30°C e irradiando-os com luz ultravioleta por 30-45 minutos para a sanitização.

10

Exemplo 5. Para a utilização do produto, as quantidades necessárias são disponibilizadas com base em uma tabela de diluições para preparar os meios necessários; simplesmente regenerando novamente os cristais em uma solução de água despirogenada, pode-se obter o soro fetal bovino com as mesmas propriedades daquele já conhecido na forma líquida.

15

20

TABELA DE DILUIÇÕES			
GRAMAS SFB CRISTALIZADO	MILILITROS DE DILUENTE	% SOLUÇÃO FINAL A SER UTILIZADA	EQUIVALENTE EM MILILITROS DE SFB LÍQUIDO
0.242 g	50 ml	10%	5.0 ml
0.485 g	100 ml	10%	10 ml
1.2125 g	250 ml	10%	25 ml
2.425 g	500 ml	10%	50 ml
4.85 g	1000 ml	10%	100 ml
NOMENCLATURA			
ml	Mililitros		
g	Gramas		
SFB	Soro Fetal Bovino		
%	Porcentagem		

A tabela acima é elaborada com base em 48,50 gramas por litro de cristais de soro fetal bovino e as diluições são preparadas a partir desses dados. A eficiência do nosso

5 processo permitiu que os lotes obtidos de soro fetal bovino cristalizado apresentassem quantidades constantes de proteína.

Após a cristalização do soro fetal bovino, as quantidades

10 especificadas na solução diluente devem ser fornecidas conforme mostrado na tabela de diluições acima, para obter a porcentagem indicada no meio de cultura correspondente, que possui uma diluição a 10%. Essa mesma tabela mostra a

equivalência correspondente em mililitros de soro fetal bovino líquido, como produto acabado.

PARA A OBTENÇÃO DE SORO FETAL BOVINO CRISTALIZADO, FOI  
5 SELECIONADA A SEGUINTE MODALIDADE PREFERENCIAL DA INVENÇÃO:

Começaram a procurar poliamidas e encontraram algumas alifáticas que, segundo a literatura, indicava que eram muito fáceis de polimerizar, especialmente em caso de alterações de  
10 pH, então optaram por continuar buscando agora as poliaminas. Na literatura mencionavam que são mais amigáveis com as proteínas e, se de baixo peso molecular e ponto de fusão, melhor ainda, o que levou à realização de misturas com as alifáticas, onde diferentes testes foram realizados alterando  
15 as variantes de consistência, aparência, cor, quantidade, manipulabilidade, concentração de poliamina, concentração de álcool, temperatura, desidratação, efeito químico-biológico negativo-positivo e cristalização.

Ao iniciar o trabalho com as poliaminas, encontraram  
20 disponíveis a agmatina, espermina e espermidina, sendo que as mesmas variáveis foram tratadas para cada uma delas, assim como para as poliaminas, realizando-se os mesmos testes de consistência, aparência, cor, quantidade, maleabilidade, concentração de poliamina, concentração de álcool etílico,  
25 temperatura, desidratação, efeito químico e biológico negativo-positivo e cristalização, onde os melhores resultados são aqueles que são levados em consideração e que reuniam as características químico-biológicas positivas.

Descrevo de forma suficiente e clara as etapas da modalidade preferencial de nossa invenção, Obtenção de Soro Fetal Bovino Cristalizado, para colocá-la em prática.

- 5 1. A procedência do animal (bovina fêmea) é identificada.
2. É verificado se o animal atende aos requisitos de saúde, devendo possuir o prontuário completo de doenças, vacinas e alimentação.
3. Selecionam-se as fêmeas bovinas que apresentem as
- 10 seguintes características:
  - a) Até 7 meses de gestação.
  - b) Sem doenças.
  - c) Ter todas as vacinas em dia.
  - d) Nutricionalmente saudável com uma dieta à base de pasto.
- 15 4. O atordoamento é realizado com CACHETERO CASH para que o animal possa ser abatido sem crueldade.
5. O sacrifício do animal é realizado através de um degolamento vertical.
6. É realizada a drenagem do feto bovino.
- 20 7. Posteriormente o feto é extraído verticalmente do bovino.
8. O sangue fetal é extraído verticalmente e deve ser coletado em condições higiênicas, em bolsas de polipropileno, para evitar contaminação e permitir o processamento.
9. O sangue é analisado para garantir que não contenha
- 25 contaminantes externos. Ele é examinado visual e manualmente para verificar se o sangue foi extraído do feto com a devida higiene, para verificar também se o coágulo está começando a se formar e para avaliar as características do sangue, como cor e densidade.

10. O sangue é deixado em repouso por 5 horas para permitir a formação do coágulo, mantendo-o no gelo para evitar o crescimento de microrganismos.

5 11. O sangue é submetido à desfibrinação de forma mecânica para romper todos os tipos de coágulos.

12. O sangue é submetido à centrifugação para separação do soro a 8.000 rpm, durante 30 minutos a 4°C, em uma centrífuga Beckman Coulter modelo Avanti JxN-26.

13. A decantação é realizada.

10 14. Obtém-se soro fetal bovino.

15. O soro é colocado em tanques de homogeneização com capacidade de 10 a 20 litros, de formato oval, onde é homogeneizado por meios mecânicos, ou seja, por movimentos circulares, horizontais, verticais e vibratórios.

15 16. Obtém-se o soro homogêneo.

17. O soro é transferido para recipientes cilíndricos de aço inoxidável com uma inclinação interna, na parte externa com um manômetro para medir a pressão de bombeamento do nitrogênio, uma tampa de vedação hermética e uma conexão flexível que sai do cilindro e alcança o recipiente com capacidade de 10 a 20 litros. Deve ser conectado a um sistema de bombeamento de nitrogênio para embalagem com base na dosagem desejada.

20

18. O soro é submetido a uma tripla filtração utilizando 25 filtros duplos Pall Acropack de 0,1 micra para remover toxinas e compostos químicos indesejados.

19. Embalar para distribuição em condições higiênicas e com total assepsia.

20. Após o soro ser embalado, ele é irradiado com luz ultravioleta por 30 a 45 minutos para garantir a esterilização do produto.

21. O soro é congelado a  $-21^{\circ}$  graus Celsius para  
5 armazenamento.

22. O soro fetal bovino puro é descongelado à temperatura ambiente de 8 a 12 graus Celsius.

23. Adicionam-se 80 ml de agmatina a 30% com água, obtendo-se um pH de 6. A mistura corresponde a 600 ml de soro fetal  
10 bovino mais 80 ml de agmatina a 30% e 100 ml de solução etílica a 40% em água com pH 6.

24. É incubado durante 2 horas a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

25. É centrifugado a  $-6^{\circ}\text{C}$  a uma velocidade de 8.000 rpm para a separação da matéria sólida.

15 26. Caso sejam encontrados sólidos após a centrifugação, esses sólidos da amostra são descartados.

27. É adicionada ao composto de soro fetal bovino com agmatina uma solução de 12,80% de álcool etílico a 40%, o que ajuda a manter as propriedades do Soro Fetal Bovino sem  
20 afetar sua composição química.

28. É submetido à centrifugação a 8.000 rpm a uma temperatura máxima de  $-5^{\circ}\text{C}$  para a separação da matéria sólida.

29. É submetido gradualmente a uma temperatura máxima de  $18^{\circ}\text{C}$ , durante o tempo necessário para realizar a remoção da  
25 água para a desidratação do produto sem perder as propriedades químicas iniciais.

30. A amostra forma finos cristais rosa; obtêm-se finos cristais rosa de aproximadamente 1 micra.

31. Após o composto cristalizado ser embalado, este é colocado em recipientes estéreis de poliéster de glicol PETG ou de vidro.

5 32. É irradiado com luz ultravioleta durante 30 a 45 minutos para garantir a higienização do produto.

33. São realizados estudos dos principais parâmetros para verificar a conformidade em relação à qualidade e assepsia do produto.

10 34. Para a utilização do produto, as quantidades necessárias são disponibilizadas com base em uma tabela de diluições para preparar os meios necessários; simplesmente regenerando os cristais em uma solução de água despirogenada, pode-se obter o soro fetal bovino com as mesmas propriedades daquele já conhecido na forma líquida.

15 As quantidades para a regeneração dos cristais e seu uso ideal são: em 50 ml de solução água despirogenada com 0,242 g de Soro Fetal Bovino cristalizado; em 100 ml com 0,485 g de Soro Fetal Bovino cristalizado; em 250 ml com 1,2125 g de Soro Fetal Bovino cristalizado; em 500 ml com 2,425 g de Soro  
20 Fetal Bovino cristalizado; em 1000 ml com 4,85 g de Soro Fetal Bovino cristalizado, de acordo com o lote do teste realizado.

25

30

## REIVINDICAÇÕES

Tendo descrito nossa invenção de forma suficiente e clara,  
5 consideramos como uma novidade, e, portanto reivindicamos  
como de nossa propriedade exclusiva, o conteúdo nas cláusulas  
a seguir:

- 10 1. Processo para a obtenção de um cristalizado e soro fetal  
bovino com agmatina, compreendendo as seguintes etapas:
  1. Identificação da procedência do bovino fêmea.
  2. Revisão dos requisitos sanitários do bovino fêmea.
  3. Seleção do bovino fêmea.
  - 15 4. Atordoamento do bovino fêmea utilizando a técnica de  
Cachetero Cash.
  5. O sacrifício do animal através de um degolamento  
vertical.
  6. Drenagem do feto bovino.
  - 20 7. Extração do feto bovino verticalmente.
  8. Extração vertical de sangue fetal e coleta em  
condições higiênicas em bolsas de polipropileno.
  9. Verificação se o sangue não apresenta qualquer  
contaminante externo.
  - 25 10. Repouso do sangue.
  11. Desfibrinação do sangue de forma mecânica para  
romper todos os tipos de coágulos.
  12. Separação do soro por centrifugação.
  13. Decantação do soro fetal bovino.
  - 30 14. Obtenção do soro fetal bovino.

15. Colocação do soro fetal bovino em tanques de homogeneização.
13. Obtenção do soro fetal bovino homogêneo.
17. Colocação do soro fetal bovino em recipientes de aço inoxidável.
- 5
18. Filtragem do soro fetal bovino para remover toxinas e compostos químicos indesejados.
19. Embalagem de soro fetal bovino para distribuição em condições higiênicas e com total assepsia.
- 10
20. Esterilização do soro fetal bovino.
21. Congelamento do soro fetal bovino.
22. Descongelamento do soro fetal bovino puro.
23. Obtenção de uma mistura constituída de soro fetal bovino com agmatina e água.
- 15
24. Incubação da mistura.
25. Centrifugação da mistura.
26. Remoção de possíveis sólidos da amostra após a centrifugação.
27. Adição ao soro fetal bovino com agmatina de 12,80% de álcool etílico a 40%, o que ajuda a manter as propriedades do Soro Fetal Bovino sem afetar sua composição química e para eliminar resíduos de poliamina.
- 20
28. Centrifugação para a separação da matéria sólida.
- 25
29. Secagem para a desidratação da mistura.
30. Obtenção de finos cristais.
31. Embalagem do composto cristalizado.
32. Desinfecção do composto com luz ultravioleta.
33. Realização de testes para controle de qualidade.
- 30
34. Regeneração dos cristais.

2. Processo para a obtenção um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 3 a seleção do bovino fêmea é baseada na idade de até 7 meses de gestação.

5 3. Processo para a obtenção de um composto cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 10 o repouso do sangue é por 5 horas mantendo-o no gelo.

4. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal  
10 bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 12 a separação do soro é feita por centrifugação a 8.000 rpm durante 30 minutos a 4°C em uma centrífuga Beckman Coulter modelo Avanti JxN-26.

5. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal  
15 bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 15 os tanques são de aço inoxidável com capacidade de 10 a 20 litros e têm formato oval, onde é homogeneizado por meios mecânicos, ou seja, por movimentos circulares, horizontais, verticais e vibratórios.

20 6. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 17 o soro é transferido para um cilindro de aço inoxidável que deve ser conectado a um sistema de bombeamento de nitrogênio para  
25 embalagem com base na dosagem desejada.

7. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 18 é realizada uma tripla filtração com bombeamento de nitrogênio usando filtros  
30 duplos Pall Acropack de 0,10 micra.

8. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 20 a esterilização do soro fetal bovino com luz ultravioleta é realizada por 30-45 minutos.
9. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 21 o armazenamento do soro fetal bovino é feito a  $-21^{\circ}$  graus Celsius.
10. 10. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 22 o descongelamento do soro fetal bovino puro é realizado à temperatura ambiente de 8 a 12 graus Celsius.
15. 11. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 23 é obtida uma mistura constituída por 600 ml de soro fetal bovino mais 80 ml de agmatina a 30% e 100 ml de solução etílica a 40% em água com pH 6.
20. 12. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 24 a incubação da mistura é realizada por 2 horas a  $-5^{\circ}$ C.
25. 13. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 25 a centrifugação da mistura a  $-6^{\circ}$  C é realizada a uma velocidade de 8.000 rpm para a separação da matéria sólida.

14. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 27 o álcool etílico é adicionado ao composto de soro fetal bovino e agmatina, em  
5 que a concentração de álcool etílico é de 40%.

15. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 28 a centrifugação é realizada a 8.000 rpm a uma temperatura máxima de  $-5^{\circ}\text{C}$  para a  
10 separação da matéria sólida.

16. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 29 a temperatura de secagem para desidratação do composto é progressivamente  
15 aumentada até uma temperatura máxima de  $18^{\circ}\text{C}$  para evitar a perda das propriedades químicas iniciais.

17. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 30 são obtidos finos  
20 cristais cor rosa de tamanho de 1 micra, não limitado a 1 micra.

18. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 31 a embalagem do  
25 composto pode ser feita em recipientes estéreis de poliéster glicol PETG ou de vidro.

19. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 32 a esterilização do  
30 composto é feita com luz ultravioleta.

20. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 32 o tempo de esterilização do composto é de 30 a 45 minutos.

5 21. Processo para a obtenção de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que na etapa 34 as quantidades para a regeneração dos cristais e sua utilização podem ser de 50 ml de solução de água despirogenada com 0,242 gramas de Soro Fetal Bovino cristalizado; 100 ml com 0,485 gramas de Soro Fetal Bovino cristalizado; 250 ml com 1,2125 gramas de Soro Fetal Bovino cristalizado; 500 ml com 2,425 gramas de Soro Fetal Bovino cristalizado; 1000 ml com 4,85 gramas de Soro Fetal Bovino cristalizado.

15 22. Cristalizado de soro fetal bovino com agmatina obtido pelo processo de acordo com as reivindicações 1 a 20.

23. A utilização de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina em culturas de células para aumentar a produção celular e aumentar a expressão de proteínas por célula.

20 24. O uso de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina em culturas de células de acordo com a reivindicação 1, para um armazenamento livre de cadeia de ultra refrigeração.

25 25. O uso de um cristalizado de soro fetal bovino com agmatina em culturas de células de acordo com a reivindicação 1, usando dosagem precisa de acordo com a reivindicação 2, para a quantidade a ser utilizada, reduzindo os riscos de contaminação.

RESUMO

Um processo para a obtenção de soro fetal bovino cristalizado com a adição de agmatina, que, em uma concentração  
5 específica, atua no aumento da produção celular e aumento da expressão de proteínas por célula; bem como a forma indicada de reconstituição em um líquido específico para uso, sem perder as propriedades originais, permitindo o armazenamento livre da cadeia de ultra refrigeração e reduzindo os riscos  
10 de contaminação, pois possibilita a dosagem precisa na quantidade de uso.